

荧光光谱法研究有机污染物的环境行为

张勇¹, 慕俊泽¹, 朱亚先², 鹿贞彬², 李纯茂¹

(1. 厦门大学海洋环境科学教育部重点实验室, 厦门大学环境科学研究中心, 厦门 361005; 2. 厦门大学化学系, 厦门 361005)

摘要: 荧光光谱法作为一种测定痕量有机化合物和生化物质的高灵敏度和高选择性的测试手段, 因其操作简单、运行成本低和非破坏性, 在环境科学等方面得到了广泛的应用。本文介绍了荧光光谱法研究 PAHs 与溶解态有机物间相互作用、同步荧光法研究溶解态 PAHs 的生物降解、荧光分析法直接研究溶解态 PAHs 的光降解以及用同步荧光法测定鱼胆汁中 PAHs 的代谢产物等几方面的工作, 展示了荧光光谱法用于研究有机污染物的环境行为的应用前景。

关键词: 荧光光谱法; 有机污染物; 环境行为

中图分类号: X132 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2004)增刊-0082-04

Environmental Behavior of Organic Pollutants by Molecular Luminescence

ZHANG Yong¹, MU Jun-ze¹, ZHU Ya-xiang², LU Zhen-bin¹, LI Chun-mao¹

(1. The Key Lab. for Mar. Environ. Sci. of MOE of China, Environ. Sci. Res. Center, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. Chem. Dept., Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: As a high sensitive and relatively high selective method for determining the trace organic and biochemical compounds, the fluorometry has been widely applied in studies on environmental science due to its simplicity, low cost, and non-destructivity. The applications of fluorometry to the study on the environmental behavior of organic pollutants, including the study on the interactions between polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) and dissolved organic matter by fluorometry, monitoring of biodegradation processes of pyrene (Py) by synchronous fluorometry, direct study of photolysis of dissolved PAHs by fluorometry and determination of 1-hydroxy pyrene (1-HP) in fish bile by synchronous fluorescence spectrometry were summarized. Experimental results showed that great future prospects of applications of fluorometry to the study on the environmental behavior of organic pollutants were demonstrated.

Key words: fluorometry; organic pollutants; environmental behavior

近年来, 海洋污染和生态环境退化速度在加快, 这些无不与大量的陆源污染物输入有关。因此建立新的研究方法, 对近岸大气、海水及沉积物中的痕量有污染物(如 PAHs 等)进行现场动态监测, 研究其在环境中的迁移转化及其所产生的生态毒理效应, 揭示环境污染控制途径与受损环境修复原理是迫切需要解决的问题。

荧光光谱分析法作为一种测定痕量有机化合物和生化物质的高灵敏度和高选择性的测试手段, 因其操作简单、运行成本低, 在生命科学、环境科学等方面得到了广泛地应用并展示出广阔地应用前景^[1-3]。特别是近 10 年来一些新方法倍受关注, 并得到迅速发展。为此, 通过开发研制新的实验装置和分析方法, 结合实验室、现场研究, 建立以荧光光谱法为主, 系统研究某些典型区域(如河口、港湾、红树林湿地)有机污染物环境行为的方法体系, 在不同的时空尺度上研究环境有机污染物的迁移转化规律及其作用机理显得尤为重要。

1 研究方法

主要应用了同步荧光测定、荧光偏振测定等传

统的荧光分析技术和方法, 和普通的荧光光谱法相比, 它们具有自身显著的优点^[4]。

PAHs 作为有机污染物的代表, 因其低的水溶解度和高的吸附性使其在水环境中的分布、迁移、转化与其本身的浓度、水环境的物理、化学、生物等过程直接相关^[5-6]。同时 PAHs 具有大的共轭体系, 其分子轨道中包含了能量低的成键轨道和能量高的反键轨道, 因此典型 PAHs 都具有较高的荧光量子产率, 适用于用荧光光谱法进行研究。

2 结果与讨论

2.1 荧光光谱法研究 PAHs 与溶解态有机物间相互作用

DOM(如腐植酸)与疏水性有机污染物之间的相互作用, 直接影响着有机污染物在水环境中的迁移、转化和归宿^[7]。已有的研究表明, 疏水性有机污染物与 DOM 的相互作用对有机污染物的生物

基金项目: 国家自然科学基金项目(20377035)

作者简介: 张勇(1962~), 男, 河南北宫人, 博士, 教授, 博士生导师。主要研究方向为有机污染物的迁移转化、分子发光分析法在环境化学研究中的应用以及环境分析新方法新技术的开发应用研究。Email: yzhang@jingxian.xmu.edu.cn

降解、光降解以及对污染物的挥发性都有显著的影响^[8]. 应用荧光淬灭法^[9]、荧光偏振法^[10]等分别研究了芘与腐植酸、芘与富勒酸间的相互作用以及 α -环糊精(α -CD)对上述相互作用的影响,并研究了外加磁场对有机污染物环境行为的影响^[11]. 其中根据 Stern-Volmer 方程 $F_0/F = 1 + K_{ac}[OM]$, 利用荧光淬灭法研究芘与 3 种腐植质的相互作用的结果如表 1 所示. 该方法的特点是快速、准确、易于操作. 这些对研究环境样品中低溶解度的有机污染物的环境行为是非常重要的.

表 1 芘与 3 种腐植质的结合常数

Table 1 The association constants of pyrene with three kinds of humic substances

腐植质	R	$K_{ac} \times 10^{-5}/\text{mL} \cdot \text{g}^{-1}$
A	0.998	1.7
B	0.997	1.2
C	0.999	1.0

2.2 同步荧光法研究溶解态 PAHs 的生物降解

生物降解是影响 PAHs 环境行为的一个重要因素. 在生物降解治理污染环境的过程中,被研究的有机污染物尽管在水相中的溶解度很低,但大部分已知的降解菌是通过降解溶解态的污染物来实现污染物的去除. 因此如果能模拟此条件,并直接检测被降解对象浓度的变化情况,对于揭示现实环境中此类化合物的降解机理非常重要. 本研究以芘作为 PAHs 的模型分子,采用同步荧光法考察了 3 种降解菌株对无机培养基 MSM 水溶液中溶解态芘的生物降解. 其中芘在 MSM 溶液中的荧光光谱和同步荧光光谱如图 1 所示^[12]. 和芘在水溶液中的谱图相比,MSM 对芘的荧光有一定的淬灭作用,但不影响用同步荧光光谱法测定降解过程中芘浓度的变化. 所建方法的检测限为 0.19 ng/mL,相对标准偏差小于 1.3% ($n=9$). 在相同的实验条件下,用所建方法考察了几种不同芘的降解菌株对溶解态芘的降解能力. 实验结果表明,该方法最大的特点是在不经萃取的情况下可直接用于溶解态芘的降解过程的检测,且所得结果与 GC/FID 的实验结果一致. 与现行的研究方法相比较,该方法每一次检测的时间小于 1 min,仪器及运行成本很低,同时因无需萃取,该方法可更直观、更准确地反映生物降解过程. 为在实验室或现场研究 PAHs 的生物降解及相关的机理提供了新的研究手段^[13].

在上述结果的基础上进一步研究了羟丙基- α -CD(Hdroxypropyl- α -cyclodextrin, HPCD)对微生物

降解溶解态芘的影响^[14]. 实验结果表明, HPCD 的存在不仅使体系的荧光强度大大增加,而且也增加了芘的生物有效性,从而加快了芘的降解速率. 同时 HPCD 的加入使所建方法的对芘的检测限改善为 0.017 ng/mL,相对标准偏差小于 0.4% ($n=7$).

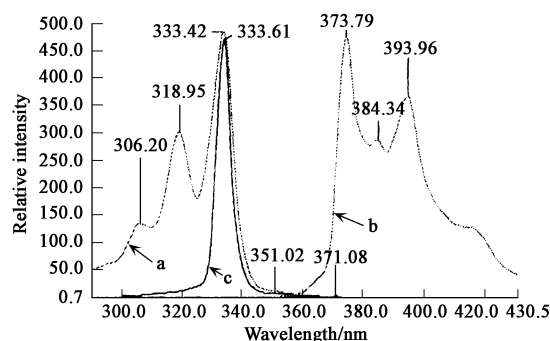


图 1 芘在 MSM 溶液中的激发(a)、发射(b)和同步荧光光谱(c)

Fig. 1 Excitation(a), emission(b) and synchronous spectra(c) of pyrene in MSM

2.3 荧光分析法直接研究溶解态 PAHs 的光降解

光降解是影响 PAHs 环境行为的另一个重要因素. 在自制的光降解反应装置下,以蒽为模型分子,考察了 α -CD、 β -CD、HPCD、DMCD[heptakis(2,6-di-O-methyl)- β -CD]、 γ -CD 5 种 CDs 对生物可利用蒽在水溶液中的光降解的影响^[15]. 图 2 是蒽在 α -CD 水溶液中光降解过程中荧光光谱的变化,在相同实验条件下,蒽在其它 CDs 水溶液中光降解过程有相似的趋势. 暗反应中荧光强度没有明显变化,表明非光降解因素对蒽的降解影响不明显. 由图 2 可知,随着光照时间的增加,蒽溶液的荧光强度逐渐降低,表明蒽的浓度逐渐降低,蒽在高压汞灯的照射下得到了有效的降解. 同时可以看出,蒽的荧光发射光谱形状没有发生变化,表明光降解中间产物对荧光测定也没有影响. 实验结果按一级反应动力学方程拟合后如图 3 所示. 由图 3 可知,几种 CDs 对蒽在水溶液中光降解促进作用的能力的顺序为: HPCD > DMCD > α -CD > β -CD > γ -CD. 实验结果表明, CDs 的种类、空腔大小以及空间位阻效应对目标化合物的光降解过程影响显著. 在上述有关实验结果的基础上,探讨了 CDs 影响蒽光降解过程的可能的机理. 同时,还研究了模拟海水、陈化海水中目标化合物的光降解情况,发现了许多有趣的值得深入探讨的实验现象.

2.4 用同步荧光法测定鱼胆汁中的 PAHs 的代谢产物

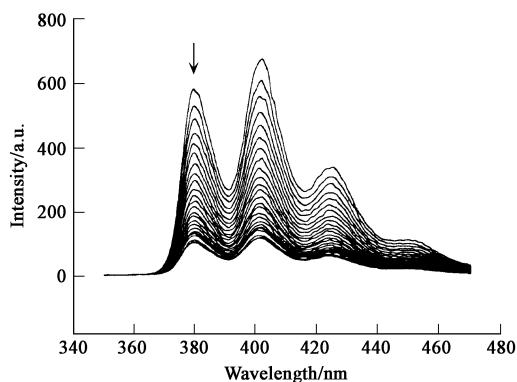


图 2 蒽在 γ -CD 水溶液中光降解过程中荧光光谱的变化
(图中箭头所指方向为荧光强度随时间的变化方向)

Fig. 2 Fluorescence spectra of Py during the photolysis in γ -CD aqueous solution. The order of the intensity changes vs. time is indicated by arrow.

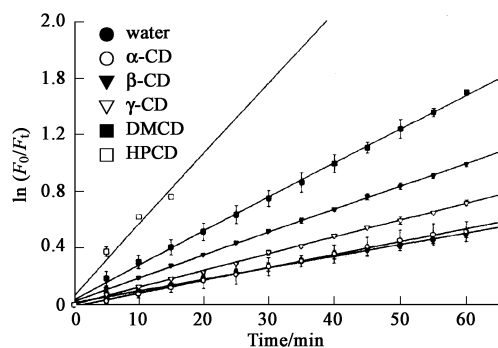


图 3 蒽光降解的一级动力学曲线

Fig. 3 First-order kinetic plot of photolysis of anthracene

污染物在水生生物体内的积蓄、代谢是研究污染物迁移转化过程中一个非常重要的环节。1-羟基蒽(1-HP)作为一种普遍存在的 PAHs 的代谢产物,已被广泛用作人和动物暴露于 PAHs 环境下的生物检测指示物^[16]。利用同步荧光法灵敏度高且具有一定选择性的特点,建立了同步荧光法测定鱼胆汁中的蒽的代谢产物之一 1-HP 的方法^[17]。图 4 和图 5 所示分别为 1-HP 标准溶液和鱼胆汁中 1-HP 地同步荧光光谱($\lambda_{ex} = 37\text{nm}$)。由图可知,1-HP 的同步荧光光谱的最大波长位于 $\lambda_{ex} = 395\text{nm}$,与鱼胆汁中 1-HP 的同步荧光光谱的最大波长位置基本相同。实验证实,当 1-HP 的浓度在 $0 \sim 87\text{ng/mL}$ 的范围内,其同步荧光峰峰值与其浓度有良好的线性关系,其线性拟合方程为: $y = 0.0542x + 0.0253$,线性相关系数 $r^2 = 0.9996$ 。以真鲷 (*Pagrosomus major*, 简称 Pm), 鲆鱼 (*Nibea miichthys*, 简称 Nm) 为实验对象,在厦门海域的 4 个养殖水体评价了其测定结果用作生态毒理效应指标的可能。结果表明,所得结果

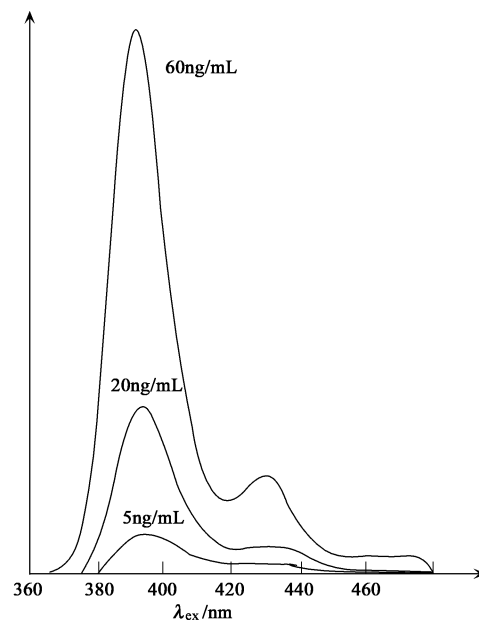


图 4 1-HP 的同步荧光光谱

Fig. 4 Synchronous fluorescence spectra of 1-HP in alcohol-water ($V/V = 1/1$) solution. Concentration of 1-HP: a = 60ng/mL ; b = 20ng/mL ; c = 5ng/mL .

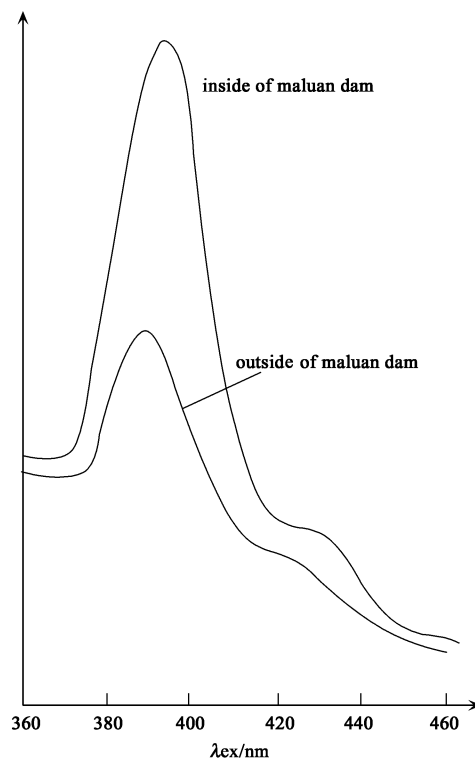


图 5 不同站位鱼胆汁中 1-HP 的同步荧光光谱

Fig. 5 Synchronous fluorescence spectra of 1-HP in fish bile measured from different sampling stations: a, inside of Maluan dam; b, outside of Maluan dam

可用于判断 PAHs 生物有效部分对海岸带养殖水环境的污染程度。方法的相对标准偏差分别 2.46%

和 1.25 %.

半透膜装置 (Semi-permeable Membrane Device, SPMD) 是 90 年代初发展起来的一种新型监测采样装置, 它可在一定时间范围内连续采集暴露介质中的有机污染物, 且只采集对生物有效的部分, 并将其浓度富集到一定程度的采样方法^[18]. 本研究通过比较鱼胆汁中 1-HP 的浓度与 SPMD 内芘的浓度变化趋势 (图 6), 评价了 SPMD 模拟生物采集、监测海水、沉积物中 PAHs 生物有效性部分的效能, 结果令人满意^[19].

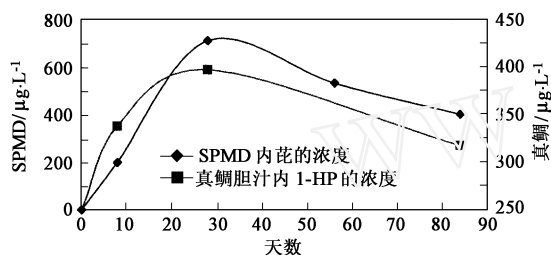


图 6 鱼胆汁中 1-HP 的浓度与 SPMD 内芘的浓度变化趋势

Fig. 6 The change of concentration of 1-HP in fish bile vs. the change of concentration of pyrene in SPMD

3 结论

荧光光谱法因具有高灵敏度和高选择性, 同时其操作简单、运行成本低和对样品的非破坏性, 而在环境有机污染物环境行为的研究方面受到了重视. 我们的研究表明, 荧光光谱法不仅可以应用于实验室有机污染物环境行为的模拟研究, 如研究 PAHs 与溶解态有机物间相互作用及溶解态 PAHs 的生物降解和光降解等, 还可以进一步应用于有机污染物环境行为的现场研究, 如对鱼胆汁中 PAHs 代谢产物的直接测定及评价 SPMD 的效能等. 因此, 若能进一步和其它方法相结合, 相信可以建立以荧光分析法为主, 系统研究 PAHs 等有机污染物在海岸带水域多介质、多界面间的迁移转化规律及作用机理的方法体系, 并将其用于某些典型的实际过程的研究.

参考文献:

- [1] Lakowicz J R. Principles of fluorescence spectroscopy[M]. 2nd ed. New York: Kluwer Academic/ Plenum, 1999.
- [2] Kuijt J, Gareia Ruiz, Stroomberg G J, et al. Laser-induced fluorescence detection at 266 nm in capillary electrophoresis: Polycyclic aromatic hydrocarbon metabolites in biota[J]. J Chromatography A, 2001, 907: 291 ~ 299.
- [3] Patra D, Mishra A K. Recent developments in multi-component

synchronous fluorescence scan analysis[J]. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2002, 21(12): 787 ~ 798.

- [4] 陈国珍, 黄贤智, 许金钩, 等. 荧光分析法 (第二版) [M]. 北京: 科学出版社, 1990.
- [5] Danielsen K M, Chin Y P, et al. Solubility enhancement and fluorescence quenching of pyrene by humic substances: the effect of dissolved oxygen on quenching process[J]. Environ Sci & Technol, 1995, 29: 2162 ~ 2165.
- [6] Chen S J, Inskeep W P. Fluorescence lifetime measurements of fluoranthene, 1-naphthol, and napropamide in the presence of dissolved humic acid[J]. Environ Sci & Technol, 1994, 28: 1582 ~ 1588.
- [7] 金志刚, 张彤, 朱怀兰. 污染物生物降解 [M]. 上海: 华东理工大学出版社, 1997.
- [8] Moody J D, Freeman J P, Dwerge D R, et al. Degradation of phenanthrene and anthracene by cell suspensions of Mycobacterium SP. Strain PYR-1 [J]. Appl Environ Microbiol, 2001, 67(4): 1476 ~ 1483.
- [9] 张勇, 朱亚先, Michael H W Lam, 等. 荧光光谱法研究芘与腐植酸间的相互作用 [J]. 福州大学学报 (自然科学版), 1999, 27: 166 ~ 167.
- [10] 张勇, 朱亚先, Michael H W Lam, 等. 荧光偏振法测定芘与富勒烯的结合常数 [J]. 福州大学学报 (自然科学版), 1999, 27: 162 ~ 163.
- [11] 朱亚先, 张勇, 黄贤智. 分子发射光谱法研究外加磁场效应对有机污染物环境行为的影响 [J]. 福州大学学报 (自然科学版), 1999, 27: 164 ~ 165.
- [12] 张勇, 朱亚先, 权改劲, 等. 同步荧光法检测芘的微生物降解 [J]. 中国环境科学, 2002, 22(4): 289 ~ 292.
- [13] Zhang Y, Zhu Y X, Kwon K K, et al. Novel method for determining pyrene biodegradation using synchronous fluorimetry [J]. Chemosphere, 2004, 55: 389 ~ 394.
- [14] 庄一廷. 荧光分析法研究 CD 存在下 PAHs 的生物降解 [D]. 厦门: 厦门大学, 2000.
- [15] 慕俊泽, 张勇, 彭景吓, 等. 荧光光谱法研究环糊精对芘在水溶液中光降解的影响 [J]. 广西师范大学学报, 2003, 21(1): 212 ~ 213.
- [16] Hollender J, Koch N, Kott W. Biomonitoring of environmental polycyclic aromatic hydrocarbon exposure by simultaneous measurement of urinary phenanthrene, pyrene and benzo[a]pyrene hydroxides [J]. J Chromatog B, 2000, 739: 225 ~ 229.
- [17] Zhang Y, Zhu Y, Wang S, et al. Direct determination of 1-hydroxypyrene in fish from coastal water by synchronous fluorimetry [J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2002, 69(4): 494 ~ 500.
- [18] 张杰, 张勇. SPMD 技术的应用与研究进展 [J]. 海洋环境科学, 2001, 20(4): 67 ~ 74.
- [19] 张杰. 用半透膜被动采样装置模拟生物监测厦门西海域的多环芳烃 [D]. 厦门: 厦门大学, 2001.